

メタノールを使った α -トレハロース二水和物の脱水反応機構のIRスペクトルによるアプローチ

著者	石井 郁子, 傘 孝之
雑誌名	日本歯科大学紀要. 一般教育系
巻	39
ページ	37-41
発行年	2010-03-20
URL	http://doi.org/10.14983/00000664



メタノールを使った α,α -トレハロース二水和物の脱水反応機構の IR スペクトルによるアプローチ

IR spectroscopic approach on the dehydration mechanism of α,α -trehalose dihydrate using methanol

北里大学 石井 郁子
生命歯学部 傘 孝之

Ikuko ISHII

*Department of Biochemistry, School of Medicine, Kitasato University,
Kitasato 1-15-1, Sagami-hara, Kanagawa, 228-8555, JAPAN*
and

Takayuki KARAKASA

*Department of Chemistry, School of Life Dentistry at Tokyo
The Nippon Dental University,
Fujimi 1-9-20, Chiyoda-ku, Tokyo, 102-8159, JAPAN*

(2010 年 2 月 5 日 受理)

The dehydration of α,α -trehalose dihydrate by methanol are as follows. (1) α,α -Trehalose dihydrate was dissolved in methanol. (2) The dissolved α,α -trehalose dihydrate was dehydrated in methanol and the α,α -trehalose anhydrate was precipitated.

The structure of α,α -trehalose in methanol was assigned by comparison with the FT-IR spectra (ATR) of the methanol solution and the aqueous solution. The result indicated that the structure of α,α -trehalose in methanol solution has double hydrogen bond network system, { C(6)-O-H - - - OH-H - - - OH-C(2') and C(6')-O-H - - - OH-H - - - OH-C(2)}, using two water molecules. The structure of α,α -trehalose in methanol was the same as the structure in aqueous solution.

Key words : Trehalose, Conformation, FT-IR, ATR, dehydration, methanol

α,α -トレハロース(α -D-glucopyranosyl-(1,1)- α -D-glucopyranoside) (1)は、乾燥保護、デンプン老化抑制、タンパク質変性抑制などを示す高機能オリゴ糖であることが知られている。¹⁾そこで、このような機能が α,α -トレハロースの

どのような構造的特徴により生み出されるのかに興味を持った。

α,α -トレハロースは、水溶液中では2つのグルコピラノース環がグリコシド結合に対して対称な構造を保っている

ことは $^1\text{H-NMR}$ スペクトル²⁾の測定から明らかになっている。我々は、更に詳細な水溶液中の α,α -トレハロースの立体構造を知るために $^1\text{H-NMR}$ スペクトルおよび IR スペクトルを使った構造解析を行った。^{3,4)}

そのなかで、 α,α -トレハロースは水溶液中で Fig. 2 に示すように水 2 分子を α,α -トレハロースの C(6)-O-H と OH-C(2') および C(6')-O-H OH-C(2) で挟み込む構造(2)のまま、水溶液中に溶解していることを α,α -トレハロース水溶液の実測 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルと計算スペクトルの比較³⁾ 及び mid-IR 領域 ($900\sim 1200\text{cm}^{-1}$) の実測スペクトルと計算スペクトルの比較⁴⁾により明らかにした。

今回、メタノールによる α,α -トレハロース二水和物の脱水反応の機構を IR スペクトルから明らかにし、この 2 分子の水が α,α -トレハロースに対してどのような役割を持っているのかを検討した。

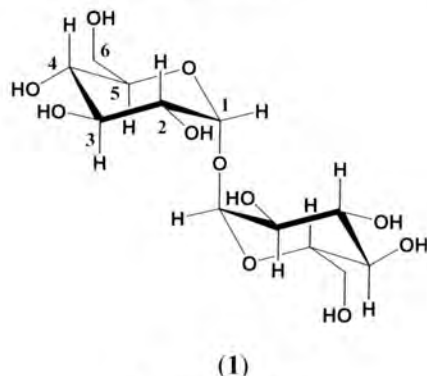


Fig. 1 α,α -trehalose

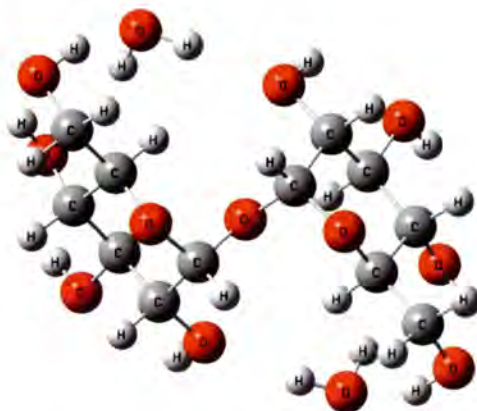


Fig. 2 Ball-stick representation of α,α -trehalose in aqueous solution (2)

実験

α,α -トレハロース二水和物は東京化成の特級試薬、水は関東化学の HPLC 用蒸留水を、メタノール(99.8%)は関東化学の特級試薬用いた。

すべての実験および測定は、室温下で行った。

IR スペクトル測定には、日本分光製 FT/IR-4200 を使用した。固体試料の IR スペクトルは、日本分光製 1 回反射型 ATR-PRO450-S にダイヤモンドプリズムを取り付け、液体試料の IR スペクトルは、日本分光製 5 回反射型 ATR-PRO410-M に液体用 Zn-Se プリズムを取り付け、共に分解能 4cm^{-1} 、積算回数 128 回で測定した。

IR スペクトルの処理は、スペクトルマネージャ(日本分光製)を用いた。

α,α -トレハロース水溶液：

α,α -トレハロース二水和物 0.10g を HPLC 用蒸留水 3mL に溶かして IR スペクトルを測定した。(sample 1)

α,α -トレハロース二水和物のメタノールによる脱水反応：

α,α -トレハロース二水和物 0.10g にメタノール 3mL を加えて数分間振とうすると α,α -トレハロース二水和物は完全に溶解し透明な溶液になった。数分経過後徐々に白濁し始め、その後白色沈殿が生成した。 α,α -トレハロースのメタノール溶液は、溶解直後は透明な溶液で、溶解 6 分後には沈殿のない白色懸濁液、溶解 14 分後には白色沈殿が生成した白色懸濁液、溶解 32 分後には生成した白色沈殿と透明な溶液に分離した。溶解直後の α,α -トレハロースのメタノール溶液を液体用 Zn-Se プリズムに入れ、そのままの状態溶解直後(sample 2)、溶解 6 分後(sample 3)、溶解 14 分後(sample 4)、溶解 32 分後の経過 IR スペクトルを測定した。

析出した白色固体は、デカンテーションによりメタノール溶液を除去した後、30 分減圧乾燥して IR スペクトルを測定した。(sample 5)

結果と考察

α,α -トレハロース二水和物は加熱エタノール (50°C 以上) 中での脱水反応により無水 α,α -トレハロースを生成することは報告⁵⁾されている。また、 α,α -トレハロースの立体配座は、 80°C 付近で変化することが知られている。⁶⁾ そこで、温度による立体配座変化の影響を除外するために、室温下での脱水反応を検討した。

室温下では、 α,α -トレハロース二水和物は 99.5% エタノールにほとんど溶けない。そこで、エタノールの代わりにメタノールを使って脱水反応を試みた。 α,α -トレハロース二水和物 0.10g にメタノール 3mL を加えて、数分攪拌すると α,α -トレハロース二水和物は完全に溶解して透明なメタノール溶液(sample 2)になった。その後、徐々に白濁し始め、溶解 6 分後には沈殿のな

い白色懸濁液(sample 3), 溶解 14 分後には白色沈殿が生成した白色懸濁液(sample 4), 溶解32 分後には生成した白色沈殿と透明な溶液に分離した。析出した白色固体(sample 5)の IR スペクトルを Fig. 3 に示した。

この白色固体(sample 5)は, 文献記載⁶⁾の IR スペクトルデータとの比較(Fig. 3)から無水 α, α -トレハロースであると同定した。

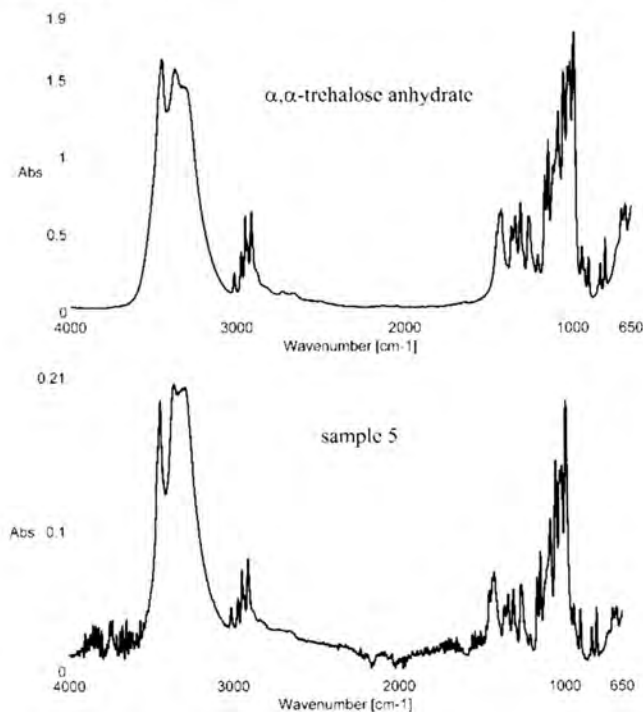


Fig. 3 IR spectra of α, α -trehalose anhydrate⁶⁾ and sample 5

次に、 α, α -トレハロース二水和物の脱水反応がどのような過程で進行したのかを知る目的で、溶解直後(sample 2), 6 分後(sample 3), 14 分後(sample 4)の IR スペクトルを比較した。sample 2, sample 3, sample 4 の C-H 伸縮領域($2800 \sim 3000 \text{ cm}^{-1}$)と mid-IR 領域($900 \sim 1200 \text{ cm}^{-1}$)の IR スペクトルを Fig. 4(a)と Fig. 4(b)に示した。C-H 伸縮領域($2800 \sim 3000 \text{ cm}^{-1}$)と mid-IR 領域($900 \sim 1200 \text{ cm}^{-1}$)ともに, sample 2 と sample 3 および sample 2 と sample 4 は異なるスペクトルを示している。一方, sample 3 と sample 4 は, 同一のスペクトルである。sample 3 と sample 4 と無水 α, α -トレハロース結晶の IR スペクトルを Fig. 5(a)と Fig. 5(b)に示した。Fig. 5 に示した sample 3, sample 4 の IR スペクトルと無水 α, α -トレハロースの IR スペクトルの比較により, sample 3, sample 4 は無水 α, α -トレハロースであることが分かる。

ここで、 α, α -トレハロース二水和物は、一旦メタノールに溶解した後、無水 α, α -トレハロースが析出する

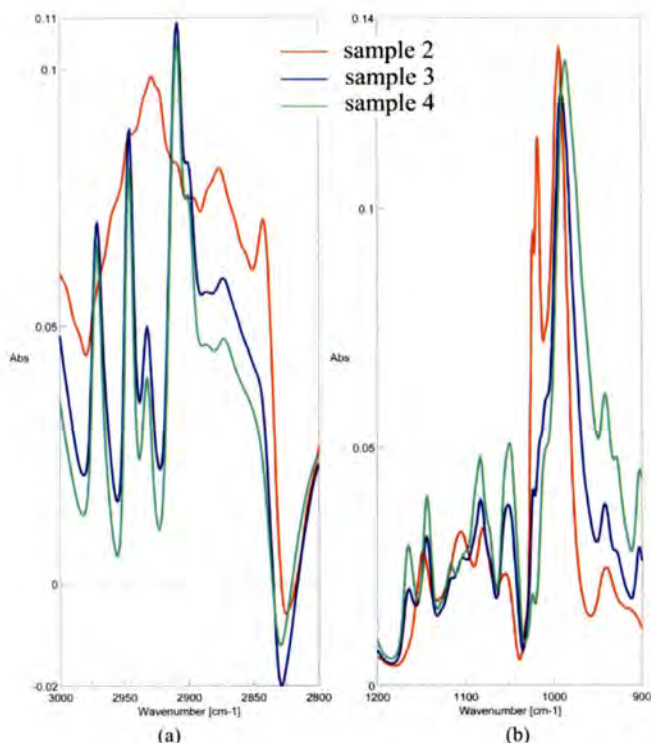


Fig. 4 IR spectra of α, α -trehalose in methanol : (a) C-H stretching region and (b) mid-IR region

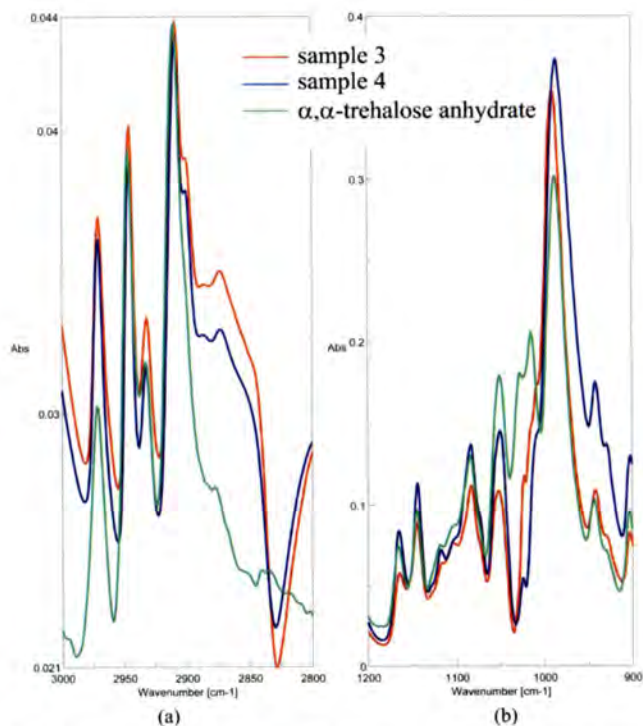


Fig. 5 IR spectra of sample 3, sample 4 and α, α -trehalose anhydrate : (a) C-H stretching region and (b) mid-IR region

ことから、 α,α -トレハロースは二水和物の状態でメタノールに溶解し、その後メタノールによる脱水反応により無水 α,α -トレハロースが生成し、メタノールに対する溶解度が低い無水 α,α -トレハロースが析出すると考えられた。

そこで、メタノールに溶解した直後の α,α -トレハロース二水和物がどのような立体配座をとっているかを明らかにする目的で、sample 2 と α,α -トレハロース二水和物の結晶および α,α -トレハロース水溶液の IR スペクトルの比較を行った。

本実験で使用した α,α -トレハロース二水和物の結晶は、グリコシド結合に対して 2 つのグルコピラノースが非対称に結合し、その構造に水二分子が取り込まれた構造 (3) (Fig. 6)⁴⁾である。一方、水溶液中の α,α -トレハロースは、グリコシド結合に対して 2 つのグルコピラノースが対称に結合した構造(2) (Fig. 2)^{3,4)}である。

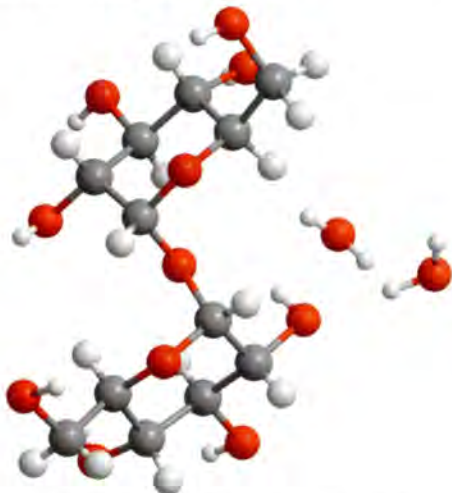


Fig. 6 Ball-stick representation of α,α -trehalose dihydrate (3)

sample 2 と α,α -トレハロース二水和物結晶の C-H 伸縮領域($2800\sim3000\text{cm}^{-1}$)と mid-IR 領域($900\sim1200\text{cm}^{-1}$)の IR スペクトルを Fig. 7(a)⁸⁾と Fig. 7(b)に示した。また、sample 2 と α,α -トレハロース水溶液の C-H 伸縮領域($2800\sim3000\text{cm}^{-1}$)と mid-IR 領域($900\sim1200\text{cm}^{-1}$)の IR スペクトルを Fig. 8(a)⁸⁾と Fig. 8(b)に示した。

Fig. 7 と Fig. 8 の IR スペクトルの比較から、メタノール中の α,α -トレハロースの C-H 伸縮領域($2800\sim3000\text{cm}^{-1}$)と mid-IR 領域($900\sim1200\text{cm}^{-1}$)ともに α,α -トレハロース水溶液のスペクトルに非常に似ていることが分かる。これは、メタノール中の α,α -トレハロースの立体配座が、水溶液中の α,α -トレハロースの立体配座と同じであることを示している。

従って、メタノール中に α,α -トレハロース二水和物

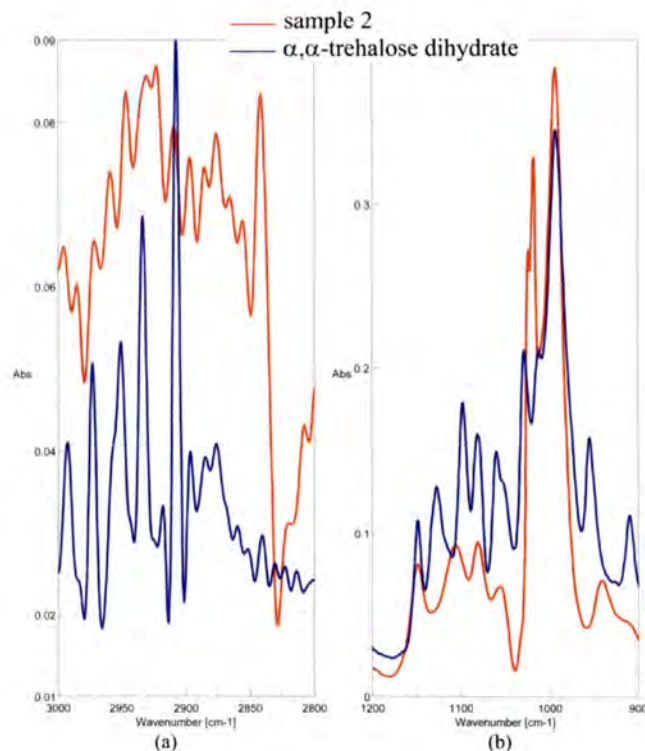


Fig. 7 IR spectra of sample 2 and α,α -trehalose dihydrate : (a) C-H stretching region and (b) mid-IR region

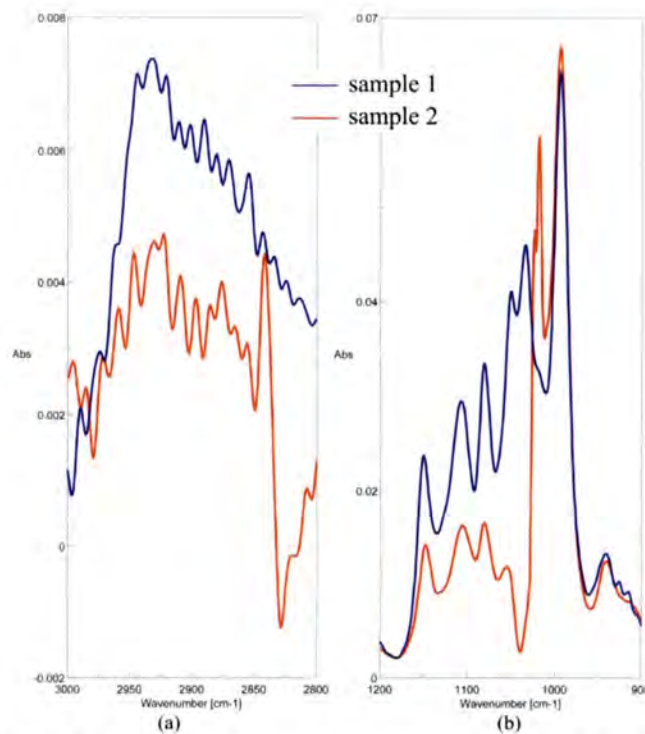


Fig. 8 IR spectra of sample 1 and sample 2 : (a) C-H stretching region⁸⁾ and (b) mid-IR region

が溶解するときは、水溶液中の α 、 α -トレハロースと同様に水 2 分子を α 、 α -トレハロースの C(6)-O-H と OH-C(2') および C(6')-O-H OH-C(2)で挟み込んだ α 、 α -トレハロース二水和物構造(2) (Fig. 2)をとり、この α 、 α -トレハロース二水和物構造(2) (Fig. 2)からメタノールにより水 2 分子が脱離し、メタノールに難溶な無水 α 、 α -トレハロースが生成・析出したものと考えられる。

α 、 α -トレハロースは、結晶状態ではグリコシド結合に対して非対称な立体配座に 2 分子の水を取り込んだ構造(3) (Fig. 6)⁴⁾になり、水やメタノールに溶解したときには、グリコシド結合に対して対称な立体配座に 2 分子の水を取り込んだ構造(2) (Fig. 2)になっている。

すなわち、 α 、 α -トレハロースは 2 分子の水を分子中に取り込むことにより溶液や結晶などの状態の違いにより立体配座を変化させることができる。この変化する能力が、 α 、 α -トレハロースに機能性分子としての働きを持たせる一つの要因になっていると考えられる。

文献

1. 第 1 回～第 12 回トレハロースシンポジウム記録集
2. V. S. R. Rao, P. K. Qasba, P. V. Balaji, R. Chandrasekaran, *Conformation of Carbohydrates*. Harwood Academic Publishers, (1998), pp. 118 と引用文献
3. 石井郁子, 傘 孝之, 日本歯科大学紀要, **36**, 33-37 (2007)
4. 石井郁子, 傘 孝之, 日本歯科大学紀要, **38**, 39-43 (2009)
5. T. Ohashi, H. Yoshii and T. Furuta, *Carbohydrate Research*, **342**, 819-825 (2007)
6. K. Akao, Y. Okubo, N. Asakawa, Y. Inoue and M. Sakurai, *Carbohydrate Research*, **334**, 223-241 (2001) : ここで用いた sample 5 の IR スペクトルは, ATR 補正(異常分散)を行った
7. T. Taga, M. Senma and K. Osaki, *Acta Crystallogr., Sect. B : Struct. Crystallogr. Cryst. Chem.*, **28**, 3258 (1972)
8. Sample 1 と sample 2 の C-H 伸縮領域(2800～3000 cm^{-1})の IR スペクトルは, 半値幅 20 cm^{-1} でデコンボリューション処理を行った。